Aus dem Basler-Kinderspital
Direktor: Prof. Dr. E. Freudenberg

Ueber eine neue Methode zur Erzeugung alimentärer Anämie bei Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät der
Universität Basel

Vorgelegt von
Mathilde Suter-Sorkin
von Oberentfelden

1944

Buchdruckerei H. Möschler, Bern

Separatabdruck aus: „Zeitschrift für Vitaminforschung“
Band 15 — Heft 3 — 1944
Verlag Hans Huber, Bern

Aus dem Basler-Kinderspital
Direktor: Prof. Dr. E. Freudenberg

Ueber eine neue Methode zur Erzeugung alimentärer Anämie bei Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät der
Universität Basel

Vorgelegt von
Mathilde Suter-Sorkin
von Oberentfelden

1944

Buchdruckerei H. Möschler, Bern

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Professor Freudenberg

Tag der Promotion: 7. Juli 1944

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus dem Basler-Kinderspital. Direktor: Prof. Dr. E. Freudenberg

Ueber eine neue Methode zur Erzeugung alimentärer Anämie bei Ratten

Von Mathilde Suter-Sorkin

Eingegangen am 26. August 1944.

Unsere Untersuchungen wurden durch eine zufällige Beobachtung veranlasst. Zur Erzeugung von Rachitis wurde an weissen Ratten eine modifizierte Diät nach Brock-Welker verabreicht. Sie hatte folgende Zusammensetzung:

Weizenkleber (Eiereiweiss)	20 %
Dextrin	40 %
Maiskörner (gemahlen)	36 %
Calciumcarbonat	3 %
Kochsalz	1 %

Brock-Welker verwendeten Weizenkleber, wir benutzten Eiereiweiss. Die Tiere befanden sich in Glasgefässen und erhielten die Nahrung mit Wasser angerührt im Porzellanfuttertrog. Ausserdem genügend Wasser. *Alle diese 16 Tiere starben zwischen dem 19. und 49. Tag an schwerer hypochromer Anämie*, während 15 Tiere von ihnen verschieden schwere Grade von Rachitis aufwiesen. Wenn man nach der Ursache der Anämie sucht, drängt sich bei der Betrachtung der Futterzusammenstellung zuerst der Mangel an Eisen auf. Mit 0,86 mg % Fe in der Trockensubstanz ist unsere Nahrung noch eisenärmer als Kuhmilch, die 1,4 mg % Fe enthält.

Schmidt machte als einer der Ersten zur Erforschung des Eisenstoffwechsels langjährige Versuche an weissen Mäusen mit Eisenmangelkost. Zur Eisenentziehung verwendet Schmidt eine Milch- und Reisernährung, welche so eisenarm ist, dass der Eisenbedarf der Tiere nicht gedeckt wird. An erwachsenen, normalen Tieren tritt bei eisenfreier Ernährung keine Anämie auf, auch nicht bei monatelanger Ernährung. Die Zahl der Erythrocyten sinkt nicht, dagegen sinkt der Gesamteisengehalt der Tiere auf 40—33 %, was dem festgebundenen Funktionseisen des Hämoglobins und wahrscheinlich auch der Gewebe entspricht. Schmidt unterscheidet:

1. Reserveeisen in Milz, Leber, Knochenmark, welches sich zusammensetzt aus dem a) Nahrungseisen,
   b) Eisen aus dem Blut- und Gewebeabbau.

   Dieses Eisen ist mobil; zum grössten Teil ist es mikrochemisch nachweisbar, z. T. braun und körnig, z. T. farblos und diffus verteilt, oder ebenfalls körnig.
2. Funktionseisen: Nicht sichtbar, ungefärbt, nicht darstellbar durch mikrochemische Reaktion, nur chemisch nachweisbar.

Die Quantität und Qualität der Erythrocyten bleiben sich gleich. Um Regenerationserscheinungen auszuschalten, setzt Schmidt die eisenfreie Fütterung durch mehrere Generationen fort. Nach Bunge bringen die menschlichen und tierischen Neugeborenen einen Vorrat an Eisen von der Mutter mit. Dieser Vorrat bleibt bei den Tieren während der Säugezeit fast gleich, da die Milch nahezu eisenfrei ist. Somit sind sie in der weiteren Ausbildung des Blutes und der Gewebe auf den angeborenen Eisenbestand angewiesen.

Ferner weist Schmidt nach, dass eisenfrei ernährte, erwachsene, nicht anämisch gewordene Tiere in der nächsten Generation Tiere erzeugen, welche von Geburt an schwer anämisch sind, da sie von der Mutter nicht mit einem Eisendepot versorgt werden konnten. Diese angeborene Anämie bleibt bestehen, wenn die Tiere eisenfrei ernährt werden. Der Autor konnte diese Anämie bis in die dritte Generation fortsetzen.

Das Blut der anämischen Tiere hat sehr grosse Aehnlichkeit mit dem von menschlichen schweren hypochromen Anämien, nämlich:

1. Starke Hämoglobinverarmung der Erythrocyten, zum Teil nur Hämoglobinringe.
2. Starke Poikilocytose, Mikrocytose und Polychromasie. Der Färbeindex ist stark herabgesetzt. Z. T. finden sich rein basophile Erythrocyten, jedoch keine basophile Punktierung und keine kernhaltigen Formen.

Aus diesem Befunde kann geschlossen werden, dass die Quantität des Hämoglobins durch die Menge des Eisens bestimmt wird. Qualitative Veränderungen des Hämoglobins, wie z. B. lockere Bindung des Eisens im Hämoglobin und dadurch positiver Ausfall der mikrochemischen Reaktion konnte Schmidt nicht finden. Um festzustellen, welche Wirkung Eisenzufuhr auf die anämischen Tiere hat, machte der Autor folgenden Versuch:

Von zwei in der zweiten Generation eisenfrei ernährten Geschwistertieren wird dem einen während seiner letzten 11 Lebenstage zur Milch-Reisnahrung ferrum oxydatum saccharatum zusätzlich verabreicht. Beide Tiere werden, wenn sie sieben Wochen alt sind, getötet. Das Blutbild der bis zuletzt ohne Eisen ernährten Maus gleicht dem der übrigen anämischen Tiere; das Hämoglobin beträgt 34 % nach Sahli und die Erythrocyten 3,5 Millionen (normal 8—9 Millionen). Dagegen zeigt das zuletzt mit Eisen gefütterte Tier einen sehr auffallenden Status: Das Blutbild ist fast normal.

Beinahe alle Erythrocyten zeigen vollen Hämoglobingehalt und fast die gleiche Grösse. Der Gesamthämoglobingehalt ist auf 78 %, die Erythrocyten auf 6,4 Millionen gestiegen. Es wurde also das zugeführte Eisen zum Aufbau des Hämoglobins verwendet. Schmidt hält es für wahrscheinlicher, dass die hämoglobinreichen Erythrocyten erst während der Eisenfütterung gebildet werden, als dass die schwachgefärbten Erythrocyten ihren Hämoglobingehalt vermehrt haben. Ausserdem steigerte sich bei dem zusätzlich mit Eisen ernährten Tiere das Gewicht von 6,5 gr auf 9 gr, also um 2,5 gr innert 11 Tagen.

Aus späteren, noch eingehenderen Arbeiten schliesst Schmidt, dass der Körper das aus der Nahrung resorbierte Eisen nicht als solches in den Organen speichert, sondern in den Stoffwechsel aufnimmt und zu Hämoglobin verarbeitet, wodurch gesteigerter Blutumsatz auftritt. Die Zahl der Erythrocyten bleibt im allgemeinen gleich. Gleichzeitig mit der Anämie bleibt bei den Tieren die Entwicklung des Körpers und der Organe zurück. Das Gewicht steigt nur langsam und geht sogar wieder zurück. Fortpflanzung gelingt nur bis in die dritte Generation. Alle anämischen Tiere haben Herzhypertrophie, die sich, wie alle anderen Symptome, durch Eisenzufuhr wieder rückgängig machen lässt. Wahrscheinlich ist diese Herzhypertrophie auch die Ursache, weshalb kleine, anämische Tiere plötzlich sterben.

Nach den Versuchen von Schmidt ist also das Eisen imstande, eine alimentär durch Eisenmangel erzeugte hypochrome Anämie zur Ausheilung zu bringen.

Nicht ganz übereinstimmend mit Schmidt fand Steenbock als Ergebnis einer Reihe experimenteller Arbeiten, welche sich mit der Erzeugung von alimentärer Anämie bei jungen Ratten bei ausschliesslicher Kuhmilchfütterung befasste, dass chemisch reines Eisen diese Anämie nicht heilen kann, sondern dass ausserdem noch ein Kupferzusatz nötig sei.

Schiff, Eliasberg und Joffe erzeugten durch Verabreichung von Kuhmilch und Ziegenmilch eine Anämie bei Ratten, während bei Frauenmilchernährung keine Anämie auftrat. Prophylaktischer Zusatz von Kupfer oder Milchzucker verhütet die Anämie. Therapeutischer Zusatz von Kupfer oder Milchzucker oder Frauenmilch bringt eine schon vorhandene alimentäre Anämie zur Ausheilung. Eisen wurde in diesen Versuchen nicht verwendet, um ausfindig zu machen, ob diese alimentäre Anämie mehr durch Mangel an Baumaterial zur Hämoglobinbildung oder mehr durch Störung der Hämoglobinsynthese durch Komplexbildung, welche die Kupferkatalyse und somit die Hämoglobinbildung hemmen, verursacht wird. Das Resultat ist, dass letzteres mehr im Vordergrund steht. Die Autoren vermuten, dass die Wirkung des Milchzuckers in der Verhinderung von Komplexbildnern beruht, welche die Kupferkatalyse hemmen. Rohrzucker hat sowohl prophylaktisch wie therapeutisch keinen Einfluss auf die Anämie.

Rominger und seine Mitarbeiter Bomskov und Meyer widmeten sich Versuchen über Ziegenmilchanämie am wachsenden Organismus. Zur Zeit dieser Versuche lagen diverse Hypothesen über das Wesen der Ziegenmilchanämie vor:

1. Die Eisenmangeltheorie.
2. Die Fettschädigungstheorie, wobei angenommen wird, dass die Ziegenmilch zuviel Fett enthält.
3. Die Gifttheorie, nach der hoher Gehalt an flüchtigen, ungesättigten Fettsäuren vermutet wird.
4. Die Vitaminmangeltheorie, C-Avitaminose.
5. Die Theorie über den Mangel des exogenen Faktors, welcher wahrscheinlich der Vitamin B_2-Gruppe angehört.

Um dieses Problem einer weiteren Klärung zuzuführen, machten die Autoren klinische und tierexperimentelle Untersuchungen. Ihre Methodik war folgende: Als Versuchstiere werden Ratten verwendet, welche in Drahtkäfigen mit weitmaschigem Boden gehalten werden. Die Käfige enthalten Holzwolle, die jeden Tag erneuert wird. Das für die Untersuchung nötige Blut wird durch Abschneiden eines kleinen Stückes Schwanzende erhalten. Zuvor wird der Schwanz einige Minuten in lauwarmes Wasser gehalten, dann abgetrocknet. Der erste austretende Blutstropfen wird nicht verwendet, erst die folgenden.

Der Normalwert an Hämoglobin beträgt bei gesunden Ratten 12—14 gr, die normale Erythrocytenzahl liegt zwischen 8 und 10 Millionen. In der vierten Woche machen alle gesunden Ratten eine physiologische Anämie durch, während welcher das Hämoglobin zwischen 8 und 10 gr und die Erythrocyten zwischen 5 und 6 Millionen liegen. Diese Anämie verschwindet wieder mit zunehmendem Alter und ist bei ca. 8 Wochen alten Tieren wieder geheilt. Die Differenzierung der Blutausstriche gesunder Ratten zeigt überwiegend Lymphocyten, daneben neutrophile und eosinophile Leukocyten, Monocyten und Uebergangsformen, daneben immer einige Normoblasten. Als Ergebnis ihrer Versuche fanden die Autoren, dass ausschliessliche Kuhmilchernährung bei 3 bis 4 Wochen alten, also bei wachsenden Ratten, aber auch bei 8 Wochen alten, also ausgewachsenen, eine hypochrome Anämie hervorruft, begleitet von Leukocytose. Durch Eisenzufuhr ist diese Anämie in kurzer Zeit heilbar. Reine Ziegenmilchfütterung führt bei 8 Wochen alten Tieren ebenfalls zu einer hypochromen Anämie. Im Gegensatz dazu führt sie aber bei jungen, drei- bis vierwöchigen Ratten zu einer hyperchromen Anämie. Diese tritt schon sechs Tage nach Beginn der ausschliesslichen Ziegenmilchfütterung auf. Gleichzeitig entsteht eine Leukopenie, ein Reticulocytenanstieg und eine Erhöhung der Resistenz. Der Versuch einer Prophylaxe mit Vitamin C ist erfolglos, woraus die Autoren schliessen, dass die Ziegenmilchanämie keine C-Avitaminose sei. Anreicherung der Ziegenmilch mit ungesättigten, flüchtigen Fettsäuren ruft die Anämie nicht früher hervor und verstärkt sie nicht; damit ist eine toxische Ursache der Ziegenmilchanämie ausgeschlossen. Bomskov und Auffarth bestärkten diese Resultate mittels einer Versuchsserie mit Zusatz von Fettsäuren bei Vitaminmangel. Zufütterung von Griess oder Kuhmilch, besonders Kuhmilchrahm, kann die Ziegenmilchanämie verhüten, ebenso extrem fettreiche Ziegenmilch. Es kann aber das Entstehen einer hypochromen Anämie nicht verhindert werden. Diese ist durch Eisen heilbar. Prophylaktische oder therapeutische Injektion von Leberextrakten verhütet, bzw. heilt ebenfalls die Ziegenmilchanämie. Dabei erreichen die Erythrocyten normale Werte, aber das Hämoglobin bleibt unbeeinflusst oder sinkt, wodurch eine hypochrome Anämie entsteht. Bei gleichzeitiger Gabe von Leberextrakt und Eisen werden auch die Hämoglobinwerte wieder normal, und nach kurzer Zeit ist der Blutstatus normal. Alleinige Gabe von Eisen kann die Ziegenmilchanämie weder verhüten noch heilen, die Tiere vertragen das Eisen eher schlechter, sie gehen in kurzer Zeit ein. Die experimentelle Ziegenmilchanämie ist nach Rominger eine schwere Anämie vom Typ der Perniciosa. Hiermit ist die fünfte Theorie, die einen Mangel des exogenen Faktors annimmt und deren Autor György ist, experimentell bewiesen. Aetiologisch ist diese Perniciosa nicht identisch mit derjenigen des erwachsenen Menschen. Nach Castle beruht letztere auf dem Mangel des „intrinsic factor", eines fermentartigen Stoffes des normalen Magensaftes. Dieser Faktor tritt mit dem „extrinsic factor" aus der Nahrung in Verbindung zu einer Substanz, welche die normale Erythropoese steuert. Nach Rominger ist diese Substanz präformiert. Andere Autoren nehmen an, dass dieser Stoff im Magen gebildet und in der Leber gestapelt wird. Während die Perniciosa des Erwachsenen

durch den „intrinsic factor“ oder durch Leberzufuhr heilbar ist, kann die durch Ziegenmilch experimentell erzeugte Anämie durch Zufuhr von „extrinsic factor“ oder Leber geheilt werden; jedoch ist sie durch Zufuhr von „intrinsic factor“ aus Magenpräparaten nicht beeinflussbar, wahrscheinlich weil letzterer bei der Ratte in genügender Menge vorhanden ist. In Kuhmilch und Weizen ist dieser „extrinsic factor“ in hinreichendem Masse vorhanden. Nach Castle ist dieser Stoff identisch mit Vitamin B_2, somit wäre nach ihm die Ziegenmilchanämie eine B_2-Avtiaminose. Die Autoren nehmen keine Stellung dazu. Die „Perniciosa“ durch Ziegenmilch lässt sich nur bei jungen Tieren erzeugen, weil die älteren wahrscheinlich genügend Vorrat an Leberschutzstoff besitzen.

Bomskov und Szerlinsky untersuchten das Verhalten der Resistenz und der Reticulocyten bei der experimentell erzeugten Ziegenmilchanämie. Die Resistenz ist bei jungen, gesunden, wachsenden Ratten gegenüber ausgewachsenen Tieren erhöht. Im Laufe der Entwicklung sinkt die Resistenz und bleibt konstant, sobald die Tiere ausgewachsen sind. Bei ausschliesslicher Kuhmilchernährung bleibt die Resistenz nach vorübergehender Senkung unverändert. Alleinige Fütterung mit Ziegenmilch führt zu einem steilen Anstieg der Resistenz, ähnlich wie bei der echten Perniciosa. Auf Lebertherapie sinkt die pathologisch erhöhte Resistenz fast schlagartig. Gleichzeitig erhöhen sich die Erythrocytenwerte, während das Hämoglobin nicht beeinflusst wird. Wenn zur Leber noch Eisen verabreicht wird, dann steigt auch der Hämoglobinwert an.

Die Reticulocytenwerte betragen bei jungen, gesunden Ratten 5—10 %. Bei Kuhmilchernährung steigen sie auf 20 % und bei Ziegenmilchfütterung entsteht innert wenigen Wochen eine sehr starke Reticulocytose. Auf Lebermedikation nehmen die Reticulocyten nach vorübergehendem Anstieg ab. Prophylaktische Fütterung von Leber verhindert die Ziegenmilchanämie und schützt somit die Tiere auch vor dem Anstieg der osmotischen Resistenz und der Reticulocytose. Hinsichtlich Reticulocyten und Resistenz verhält sich die experimentelle Ziegenmilchanämie wie die echte Perniciosa des Erwachsenen.

Eigene Versuche

Serie I.

Wie am Anfang mitgeteilt, wurde eine Serie von 16 weissen Ratten zur Erzeugung einer experimentellen Rachitis mit einer abgeänderten Diät nach Brock-Welker gefüttert. Bei Versuchsbeginn schwankte das Gewicht der Tiere zwischen 32 und 46 gr. Im Verlauf des Versuches wurden 15 Tiere verschieden stark rachitisch. Ueberraschenderweise gingen alle Tiere zwischen dem 19. und 49. Tag an schwerer hyprochromer Anämie zugrunde. Das Gewicht der Tiere zeigte keine wesentliche Zu- oder Abnahme.

Serie II.

Eine Wiederholung des Versuches ergab dasselbe Resultat.

Methodik: Es werden 8 junge, wachsende Ratten, deren Gewicht zwischen 28 und 40 gr beträgt, in den Versuch genommen. Die Tiere werden je zu dreien und die letzten zu zweien in ein Glasgefäss gesetzt, dessen Boden Torfmull enthält; zugedeckt sind die Gefässe mit einem Drahtgitter. Das Futter wird den Tieren mit Wasser angerührt in Porzellannäpfen verabreicht. Wasser erhalten sie ad libitum. Vor Versuchsbeginn werden alle Tiere gewogen und Hämoglobin und Erythrocyten durch Blutentnahme aus dem gekappten Schwanzende bestimmt. Fernerhin werden die Tiere jede Woche gewogen und alle 14 Tage wird der Blutstatus erhoben. Wenn die Tiere am Sterben sind, wird in Aethernarkose das Herz eröffnet und das Blut für Hämoglobin- und Erythrocytenbestimmung, sowie für Blutausstriche zur Bestimmung der Qualität der Erythrocyten, daraus entnommen. Zur Verhütung der Rachitis erhalten alle Tiere einmal wöchentlich 1 Tropfen Vitamin D in Oel und 1 Tropfen Vitamin A (Vogan) zur Vorbeugung der Xerophthalmie, um bezüglich der Anämie reinere Resultate zu erhalten. Keines der Tiere zeigte Anzeichen von Rachitis oder Xerophthalmie.

Ergebnis: Vier Tiere sterben schon am 17. Tag, ein Tier am 28. Tag und ein Tier erst am 41. Tag. Bei letzterem ist eine deutliche Anämisierung festzustellen, allerdings ist der Versuch nur

bis zum 28. Tag gültig, weil es am folgenden Tag die Ratte, welche im gleichen Glasgefäss untergebracht war und in der Nacht starb, anfrass. Am 28. Tag beträgt das Hämoglobin 47 % und die Erythrocyten 5,5 Mill. Beide Werte nehmen in der Folge noch stark ab und betragen am 40. Tag 15 % Hämoglobin und 2 Mill. Erythrocyten. Im qualitativen Blutbild finden sich 10 % Erythroblasten.

Bei den übrigen 5 Tieren ist eine Abnahme des Hämoglobins festzustellen, während die Erythrocytenzahlen keine wesentliche Aenderung erfahren. R 2 weist eine sehr starke Senkung des Hämoglobins auf, dagegen nimmt der Erythrocytenwert nicht ganz um eine Million ab, wodurch ein Färbeindex von nur 0,34 entsteht,

Blutkurven.

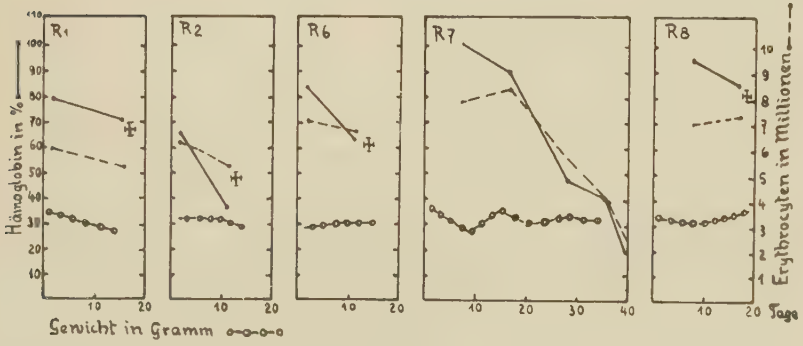

Abb. 1.

also ein sehr stark hypochromes Blutbild. Der Blutausstrich zeigt vorwiegend Mikrocytose mit 6,4 μ Erythrocytendurchmesser, daneben Anisocytose, schwankend zwischen 8 μ und 5,6 μ Durchmesser. Unreife Erythrocyten sind 2,5 % vorhanden. Der Hämatokrit beträgt 29,5 %, das Volumen 56 μ^3 (normal 100 μ^3). Gewichtszunahme ist bei keinem der Tiere festzustellen.

Um die therapeutische Wirkung von Eisen auf die beginnende Anämie zu prüfen, wird an zwei Tiere vom 17. Versuchstag an zusätzlich 0,5 % Mohr'sches Salz im Futter verabreicht. Vor dem Eisenzusatz wiesen die beiden Tiere verschieden hohe Werte an Hämoglobin, Erythrocyten und an Gewicht auf, und dementsprechend ist auch die Wirkung des Eisens verschieden.

R 4	Versuchsbeginn	17. Tag → Fe	62. Tag
Hb	109 %	75 %	92 %
Erythrocyten	7 390 000	6 050 000	8 030 000
Erythroblasten	—	—	0
Gewicht	35 gr	27 gr	39 gr

R 5	Versuchsbeginn	17. Tag → Fe	20. Tag
Hb	68 %	47,5 %	35 %
Erythrocyten	7 390 000	6 930 000	4 310 000
Erythroblasten	—	—	9 %
Gewicht	30 gr	25 gr	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, erholt sich R 4, bei R 5 dagegen nehmen Hämoglobin und Erythrocyten noch weiter ab. Allerdings ist zu erwähnen, dass letzterem von einem anderen Tier ein Fuss angefressen wurde, sodass die Möglichkeit besteht, dass das Tier an einer Sepsis zugrunde ging. Jedenfalls ist das Resultat nicht unbedingt verwertbar, trotz der offensichtlichen Anämie. Im Blutausstrich finden sich Anisocytose, Polychromasie und, wie die Tabelle zeigt, 9 % Erythroblasten. Eindeutig jedoch ist die Erholung von R 4 auf die Eisengabe. Es sinken zuerst das Hämoglobin und die Erythrocyten noch weiter herab, um dann nach dem 30. Tag wieder anzusteigen. Das Gewicht nimmt sofort zu und bleibt dann etwa konstant. Die Erythrocyten von R 4 zeigen im Blutausstrich Anisocytose, gute Hämoglobinfüllung, keine Polychromasie. Die meisten Erythrocyten haben einen Durchmesser von 7,2 μ. Die Differenzierung ergibt vorwiegend Lymphocyten, keine Erythroblasten. Da genügend Blut zur Verfügung stand, konnten ausserdem noch der Hämatokrit und die Resistenz bestimmt werden. Ersterer beträgt 43 %, das Volumen 53 μ^3. Die Hämolyse beginnt bei 0,39 % NaCl und ist vollständig bei 0,33 %. Nach den Versuchen von Bomskov an normalen, wachsenden Ratten wäre der Beginn der Hämolyse erhöht, er sollte schon bei 0,43 % NaCl-Konzentration stattfinden. Der Wert bei Vollständigkeit der Hämolyse, welcher einer Maximalresistenz von 0,35 %

NaCl entspricht, ist wenig vermindert, er sollte 0,30 % betragen. Meine Tiere sind bei Versuchsbeginn ca. 3 Wochen alt und sind entsprechend den Versuchen von Bomskov am 62. Versuchstag schon ausgewachsen.

Serie III.

Geichzeitig mit den Versuchen von Serie II wurde an zwei Tiere von Anfang an zusätzlich 0,5 % Mohr'sches Salz verabreicht. Die Futterzusammensetzung ist die folgende:

Eiereiweiss	20 %
Dextrin	40 %
Mais (gemahlen)	36 %
Calciumcarbonat	3 %
Kochsalz	0,5 %
Mohr'sches Salz	0,5 %

Ausserdem wöchentlich je 1 Tropfen ölige Lösung von Vitamin D und Vitamin A.

Ergebnis: Es entsteht ebenfalls eine hypochrome Anämie, aber nicht so frühzeitig. Bei beiden Tieren steigen im Anfang die Erythrocyten an, fallen dann aber ab bis zur Anämie. Die Hämoglobinwerte verhalten sich indessen different, bei R 10 findet, entsprechend den Erythrocyten, zuerst ein Anstieg statt, bald aber stetige Abnahme. Dagegen sinkt der Hämoglobinwert von R 9 sofort, wenn auch nur wenig, und fällt weiterhin ab bis zur Anämie.

Im Blutausstrich zeigen die Erythrocyten schlechte Hämoglobinfüllung, Polychromasie und Anisocytose. Die Erythrocytendurchmesser schwanken zwischen 8,8 μ und 5,6 μ, davon fällt der grösste Teil auf 8 μ, nämlich 39 %. Die Resistenz konnte nur bei R 9 bestimmt werden, sie ist hier erhöht. Die Hämolyse beginnt bei 0,35 % und ist bei 0,27 % noch nicht vollständig. Auffallend ist der hohe Prozentsatz an unreifen Erythrocyten mit 10 % bzw. 18 %. Sehr wahrscheinlich hängen diese Werte mit der ausserordentlichen Anämie zusammen.

Blutkurven.

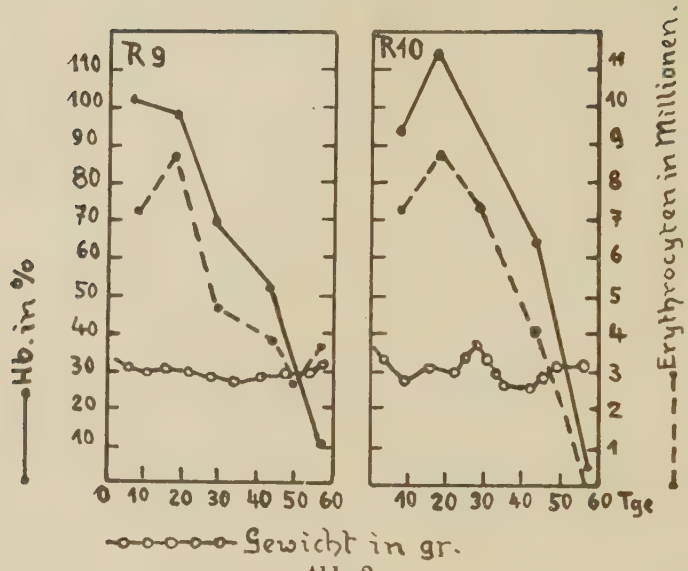

Abb. 2.

	R 9	R 10
Hb	10 %	ca. 5 %
Erythrocyten	3 540 000	400 000
Färbeindex	0,14	ca. 0,62
Erythroblasten	12 %	18 %
Hämatokrit	27 %	14 %
Volumen	77 μ^3	—
Gewichtszunahme in gr	1	—5
Versuchsdauer in Tagen	60	59

Wie aus der Tabelle hervorgeht, nimmt keines der beiden Tiere an Gewicht zu.

Serie IIIa.

In einer weiteren Serie wurden vier 26—30 gr schwere Tiere ebenfalls auf Futter mit Eisenüberschuss gesetzt, aber statt 0,5 % Mohr'sches Salz nur 0,25 %. Zusammensetzung des Futters:

Eiereiweiss	20 %
Dextrin	40 %
Mais (gemahlen)	36 %
Calciumcarbonat	3 %
Kochsalz	0,75 %
Mohr'sches Salz	0,25 %

Ferner, wie die anderen Tiere, wöchentlich je 1 Tropfen ölige Lösung von Vitamin D und A.

Ergebnis: Ein Tier wird deutlich anämisch, zwei Tiere werden nicht anämisch, und bei einem Tier sinkt das Hämoglobin, aber die Erythrocyten steigen an.

	R 17	R 18	R 19	R 20
Hb	21 %	108 %	100 %	61 %
Erythrocyten	1 370 000	9 360 000	8 740 000	8 660 000
Färbeindex	0,80	0,57	0,57	0,35
Erythroblasten	19 %	0,5 %	0	?
Hämatokrit	8 %	—	—	—
Volumen	61 μ^3	—	—	—
Gewichtszunahme in gr	2	24	16	8
Versuchsdauer in Tagen	51	87	87	48

R 17 ging sehr mühsam, mit deutlich verkrümmten Hinterbeinen. Im Röntgenbild ist jedoch keine Rachitis feststellbar. Es handelt sich um Osteopathie. Die qualitative Untersuchung der Erythrocyten ergibt schlechte Hämoglobinfüllung, Polychromasie und Anisocytose mit Durchmessern zwischen 4 µ und 8 µ. Es besteht vorwiegend Mikrocytose, nämlich:

7,2 µ	34 %
6,4 µ	30 %

R 20 starb spontan aus unbekannten Gründen, weshalb der Blutstatus nicht mehr erhoben werden konnte.

Gewichtskurven.

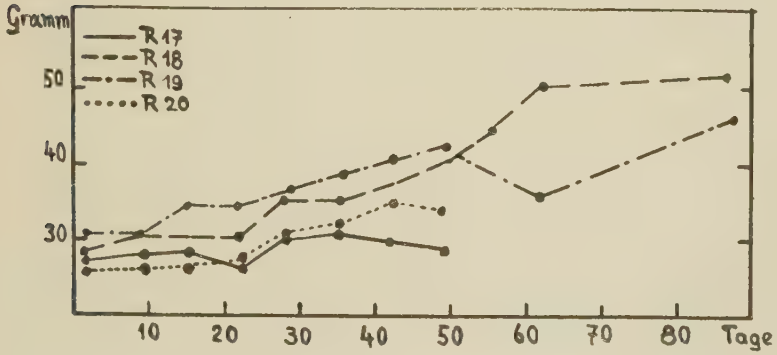

Abb. 3.

Die Gewichtsverhältnisse entsprachen dem Blutbild. R 17 zeigt entsprechend der Anämie einen Gewichtsstillstand von Anfang an. R 18 und R 19 nehmen zu um 24 gr bzw. 16 gr und R 20 nimmt 8 gr zu, gedeiht also mässig (siehe Tabellen und Gewichtskurven).

Resultat aller Tiere mit Eisenüberschuss:

Von 6 Tieren werden 3 deutlich anämisch,

1 Tier fraglich anämisch,

2 Tiere nicht anämisch.

Das Eisen allein kann also die Anämie nicht mit Sicherheit verhüten.

Serie IV.

In einer weiteren Versuchsreihe wird die Wirkung einer *prophylaktischen Verabreichung von Phosphat* geprüft. *Eisen wird nicht gegeben.* Futterzusammensetzung:

Eiereiweiss	20 %
Dextrin	40 %
Mais (gemahlen)	36 %
Natriumphosphat secund.	2,5 %
Kaliumphosphat prim.	0,5 %
Kochsalz	1 %

Vitaminzufuhr wie Serie IIIa.

Im gesamten werden 15 Tiere in den Versuch genommen:

Ergebnis: Ein Teil der Tiere wird anämisch (5 Tiere), ein Teil der Tiere stirbt frühzeitig im Erregungszustand (3 Tiere), ein Teil der Tiere überwindet den Erregungszustand und wird nicht anämisch (2 Tiere).

Zwei Tiere kann man nicht eindeutig in einer der 3 Gruppen unterbringen. Drei Tiere sterben schon im Anfang der 2. Woche und scheiden für den Versuch aus.

Anämische Gruppe:

	R 12	R 13	R 14	R 15	R 28
Hb	21 %	?	?	78 %	70 %
Erythrocyten	2 050 000	?	2 410 000	6 010 000	7 160 000
Färbeindex	0,52	—	—	0,65	0,49
Erythroblasten	26 %	15 %	14 %	0	14 %
Hämatokrit	—	—	—	—	43 %
Volumen	—	—	—	—	60 μ^3
Gewichtszunahme	7 gr	15 gr	26 gr	29 gr	6 gr
Versuchsdauer in Tag.	29	33	51	41	15

Bei R 12 ist die Resistenz für den Hämolysebeginn vermindert, für die Vollständigkeit der Hämolyse, entsprechend dem Alter, etwa normal. Es besteht bei allen 5 Tieren schlechte Hämoglobinfüllung der Erythrocyten, Polychromasie und starke Anisocytose, vorwiegend Mikrocytose. Hämoglobin und Erythrocyten von R 13 konnten nicht mehr bestimmt werden, aber die Hämoglobinfüllung

der roten Blutkörperchen ist sehr schlecht, was auf eine Anämie schliessen lässt, ebenso die vielen Erythroblasten.

	R 12	R 13	R 14	R 28
Erythrocytendurchmesser	5,6—9,6 μ	4,8—8,0 μ	4,8—8,0 μ	4,8—8,0 μ
Maximum der Häufigkeit bei	6,4 μ	6,4 μ	6,4 μ	6,4 μ

Innerhalb von 2 Tagen sinken bei R 14 die Erythrocyten um 2 Mill., das Hämoglobin kann leider nicht mehr gemessen werden. Bei der Blutentnahme aus dem Herzen war das Tier schon fast erkaltet, sodass event. auch der Erythrocytenwert nicht ganz genau ist. Das Blut ist sehr blass.

Blutkurven.

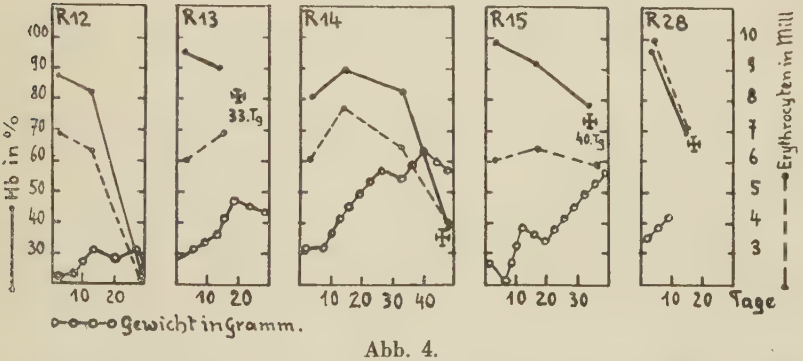

Abb. 4.

Leider konnte von R 15 kein Blutstatus mehr erhoben werden, da das Tier in der Nacht starb, jedoch weist die Abnahme des Hämoglobins von 99 auf 78 % innert 30 Tagen darauf hin, dass wahrscheinlich eine Anämie entstanden war. Die Erythrocytenzahl bleibt nach vorübergehender geringer Steigerung ungefähr gleich. R 28 starb wahrscheinlich an Darmstörungen. Bei der Sektion fanden sich stark geblähte Därme. Die Gewichtszunahme ist abhängig vom Grad der Anämie. Zum Vergleich die Werte bei den mit Eisenzusatz gefütterten Tieren:

	R 9	R 10	R 17	R 18	R 19	R 20
Gewichtszunahme in gr	1	—5	2	24	16	8
Hb in %	10	ca. 5	21	108	100	61
Erythrocyten in Mill.	3,54	0,4	1,37	9,36	8,74	8,66
Versuchsdauer in Tagen	60	59	51	87	87	49

Blutkurven.

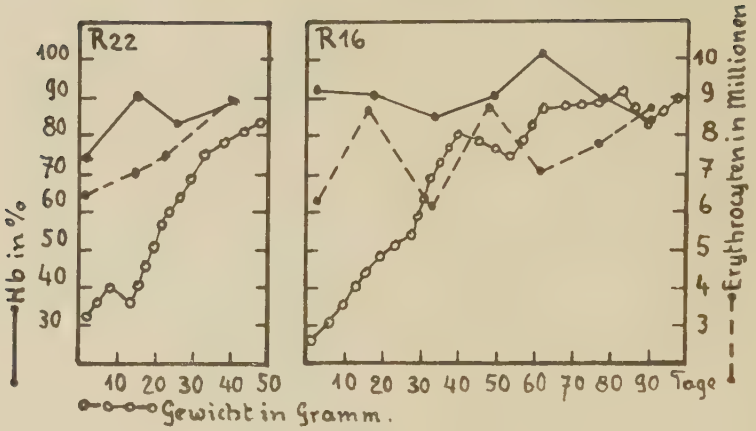

Abb. 5.

	R 16	R 22
Hb	84 %	89 %
Erythrocyten	8 700 000	9 000 000
Färbeindex	0,48	0,49
Erythroblasten	0	?
Gewichtszunahme in gr	65	53
Versuchsdauer in Tagen	98	48

Gewichtskurven.

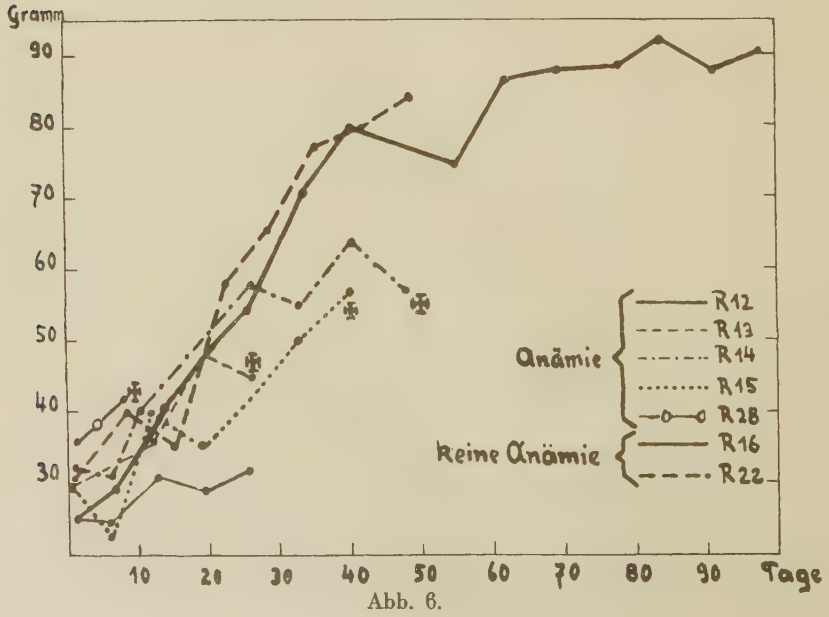

Abb. 6.

R 18 und R 19 sind die nicht anämischen Tiere in der Eisenserie und gedeihen auch gut, als einzige dieser Gruppe. Die Gewichtszunahme der mit Phosphatüberschuss gefütterten Tiere ist bei entsprechendem Alter und Anämie viel grösser, als diejenige der vorhergehenden Versuchsreihe. Die Tiere nehmen in sehr kurzer Zeit an Gewicht zu. Deutlich nicht anämisch wurden mit dem Phosphatüberschuss nur 2 Tiere, nämlich R 16 und R 22.

Das Gewicht nimmt bei beiden Tieren stark zu. Auffallend ist, dass in sehr kurzer Zeit ein starker Anstieg stattfindet, wie die Tabelle zeigt. In Erregung starben 3 Tiere, R 11, R 25 und R 26, die nur geringe Gewichtszunahme zeigten. Bei allen dreien war es unmöglich, das Blut terminal noch zu untersuchen.

Blutkurven.

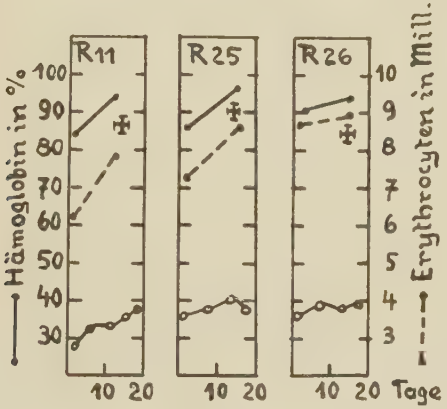

Abb. 7.

Gewichtsverhältnisse:	R 11	R 25	R 26
Gewichtszunahme in gr	11	3	3
Versuchsdauer in Tagen	20	18	18

Die beiden folgenden Tiere weichen in ihrem Verhalten von den übrigen ab.

	R 24	R 29
Hb	78 %	73 %
Erythrocyten	5 840 000	6 750 000
Färbeindex	0,67	0,54
Erythroblasten	2 %	—
Hämatokrit	35 %	—
Volumen	60 μ^3	—
Gewichtszunahme in gr	19	13
Versuchsdauer in Tagen	18	29

R 27 konnte terminal nicht mehr untersucht werden. Der angegebene Blutstatus wurde zwei Tage vor dem Tode erhoben. Bei der Sektion ist die Milz normal, Herz und Leber dagegen vergrössert und die Muskulatur eher blass. Das Gewicht nimmt, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, gut zu. Die Hämoglobinwerte sind leicht gesenkt, die Erythrocytenwerte nahezu normal.

Beurteilung des Phosphatversuches: Die Anämie kann durch Phosphatüberschuss nicht verhütet werden, trotzdem nehmen die Tiere auffallend stark an Gewicht zu.

Serie V.

Schliesslich wurden 5 Tiere auf Grunddiät, mit Phosphat- *und* Eisenzusatz gesetzt. Futterzusammensetzung:

Eiereiweiss	20 %
Dextrin	40 %
Mais (gemahlen)	36 %
Calciumcarbonat	1 %
Natriumphosphat sec.	1,5 %
Kaliumphosphat prim.	0,25 %
Kochsalz	1,0 %
Mohr'sches Salz	0,25 %

Ausserdem wöchentlich je 1 Tropfen Vitamin D und A in öliger Lösung.

Ergebnis: 4 Tiere werden deutlich nicht anämisch, und sie nehmen rapid und sehr stark an Gewicht zu. Ein Tier weist eine Anämie auf, und dementsprechend bleibt das Gewicht etwa gleich wie zu Beginn des Versuches.

Blutkurven.

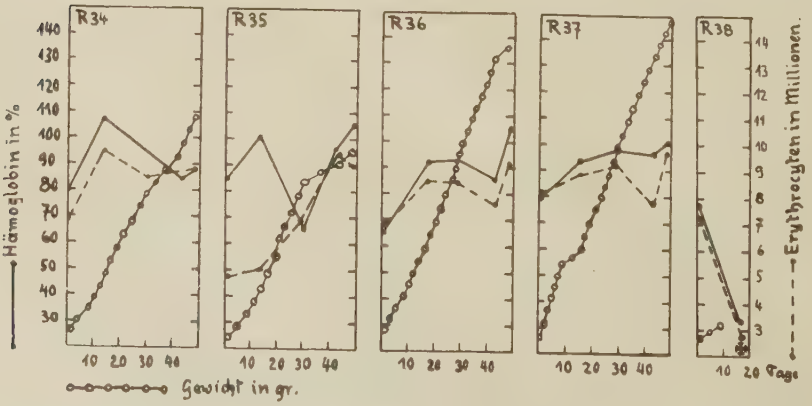

Abb. 8.

Gewichtskurven.

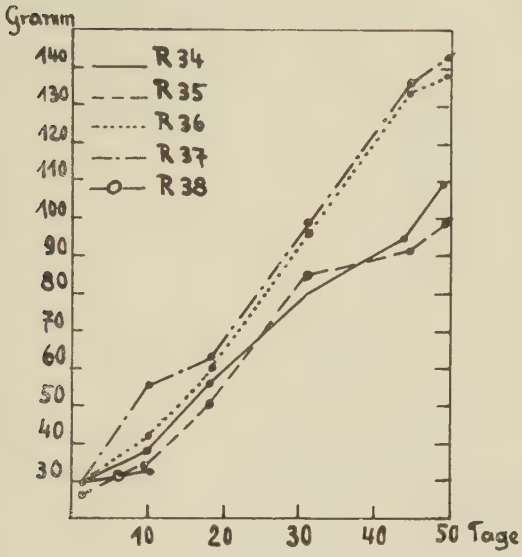

Abb. 9.

	R 34	R 35	R 36	R 37	R 38
Hb	87 %	105 %	104 %	100 %	34 %
Erythrocyten	8 790 000	9 130 000	9 050 000	9 700 000	2 740 000
Färbeindex	0,50	0,57	0,57	0,56	0,58
Erythroblasten	0	0	0	?	16 %
Gewichtszunahme in gr	81	72	109	115	4
Versuchsdauer in Tag.	50	50	50	50	19

Ergebnis: Eisen- und Phosphatzusatz zur Grunddiät sind imstande, die Anämie zu verhüten. Ausserdem findet ein ungewöhnlich starker und rascher Gewichtsanstieg statt, welcher auf das Phosphat zurückzuführen ist.

Wir deuten vorläufig unsere Versuche in folgendem Sinne: Die erzeugte Anämie ist letzten Endes eine Eisenmangelanämie. Im Gegensatz zur Versuchsanordnung von Schmidt vermag einfache Eisenzufuhr in Gestalt des Mohr'schen Salzes (Ferro-Eisen) diese Anämie nicht zu heilen. Hierfür ist das Fehlen der Phosphate, bzw. die Verknappung derselben, bei der durch D-Vitamin korrigierten, rachitogenen Diät als die Ursache anzusehen. Erst nach Phosphatzufuhr vermag Eisen diese Anämie zu heilen. *Hieraus schliessen wir, dass der Einbau des Eisens in den Porphyrinring unter Reaktionen verläuft, welche die Anwesenheit von Phosphat voraussetzen.*

Die folgende Tabelle gibt vergleichend die Erythroblastenwerte der anämischen Tiere der verschiedenen Serien wieder. Bei den nicht anämischen Tieren aller Versuche sind keine, bzw. bei einem unklaren Fall 2 % Erythroblasten vorhanden.

	Eisen- und Phosphatmangel			Eisen-Zufuhr			Phosphatzufuhr			
	R 2	R 5	R 7	R 9	R 10	R 17	R 12	R 13	R 14	R 28
Erythroblasten in %	2,5	9	10	12	14	19	26	15	14	14
Hb in %	36	35	15	10	ca. 5	21	21	?	?	70
Erythroc. in Mill.	5,2	4,3	1,9	3,5	0,4	1,3	2,0	?	2,4	7,1

	Diät			Ergebnis
Serie I	Phosphor-Mangel Eisen-Mangel Vitamin D-Mangel	Calcium-Ueberschuss Keine Vitamine	Rachitis	+ hypochrome Anämie
Serie II	Phosphor-Mangel Eisen-Mangel	Calcium-Ueberschuss Vitamin D-Zufuhr Vitamin A-Zufuhr	keine Rachitis	hypochrome Anämie
Serie III	Phosphor-Mangel	Eisen-Ueberschuss 0,5 % Mohr'sches Salz Calcium-Ueberschuss Vitamin D-Zufuhr Vitamin A-Zufuhr	—	verspätet hypochrome Anämie
Serie IIIa	Phosphor-Mangel	Eisen-Ueberschuss 0,25 % Mohr'sches Salz Calcium-Ueberschuss Vitamin D-Zufuhr Vitamin A-Zufuhr	—	1 Tier deutlich anämisch 1 Tier fraglich anämisch 2 Tiere nicht anämisch
Serie IV	Eisen-Mangel Calcium-Mangel	Phosphor-Ueberschuss Vitamin D-Zufuhr Vitamin A-Zufuhr	—	wechselnde Befunde
Serie IVa				hypochrome Anämie
Serie IVb				im Erregungszustand +
Serie IVc				keine Anämie
Serie IVd				unklar
Serie V	Genügend	Phosphor Eisen Calcium Vitamin D-Zufuhr Vitamin A-Zufuhr	—	4 Tiere nicht anämisch 1 Tier anämisch

Zusammenfassung.

1. Die benutzte Modifikation der Brock-Welker'schen Grunddiät für Rachitis erzeugt bei weissen Ratten sowohl Rachitis wie Anämie, an welcher alle Tiere zugrunde gehen. Die Tiere nehmen an Gewicht nicht zu.

2. Zufuhr von 1 Tropfen Vitamin D in öliger Lösung wöchentlich pro Tier schützt mit voller Sicherheit vor Rachitis, beeinflusst den Gewichtsstillstand aber nicht, ebensowenig die Anämie.

3. Eisenzusatz zur Grunddiät kann die Anämie nicht verhüten, bewirkt aber, dass dieselbe zeitlich später auftritt.

4. Phosphatzusatz zur Grundnahrung bei Eisenmangel kann die Anämie ebenfalls nicht verhindern. Trotz der Anämie nimmt

Zahl der Tiere	nachgewiesene Anämie	Grad der Anämie	Erythroblasten	+ an Anämie	Gewichtszunahme	Alter in Tagen
16	16	wechselnd	?	12	keine	19—49
8	4	wechselnd:	9 %	3	keine	17—41
		3 hochgradig	10 %			
		1 gering	2,5 %			
2	2	hochgradig	12 %	2	keine	59—60
			18 %			
4	2	1 hochgradig	19 %	1	2 keine	51—87
		1 gering	0,5 %		2 gute	
			0 %			
15						
5	5	2 hochgradig	26 %	4	2 gering	15—51
		2 gering	15 %		3 gut	
		1 ?	14 %			
			14 %			
			0 %			
3	—	—	—	—	2 keine	18—20
					1 mässig	
2	—	—	0 %	—	stark	48—98
2	—	—	2 %	—	gut	18—29
			0 %			
5	1	hochgradig	0 %		4 sehr stark	50
			0 %			
			0 %	1	1 keine	19
			?			
			16 %			

aber das Gewicht der Tiere erheblich zu. Der Prozentsatz an Erythroblasten ist bei den anämischen Tieren dieser Serie mindestens ebenso hoch, wie bei denjenigen der Eisenreihe.

5. Gleichzeitiger Zusatz von Eisen und Phosphat zur Grunddiät kann die Anämie eindeutig verhüten. Dabei nehmen die Tiere sehr gut an Gewicht zu. Diese Zunahme ist auf das Phosphat zurückzuführen.

6. Die experimentell erzeugte Anämie ist stark hypochrom und mikrocytär, sie verläuft ohne Erhöhung der osmotischen Resistenz. Es erscheinen zahlreiche Ertyhroblasten im Blute.

7. Die Anämie macht sich bei der Grunddiät nach 17—29 Tagen bemerkbar, bei Eisenzusatz nach 42—44 Tagen und bei Phosphatzulage nach 15—50 Tagen.

CONCLUSIONS.

Une nouvelle méthode pour produire une anémie alimentaire chez des rats. Par M. Suter-Sorkin.

L'auteur a modifié le régime de Brock-Welker lequel produit le rachitisme ainsi qu'une anémie. Une goutte de vitamine D par semaine previent le rachitisme, mais cette vitamine n'influence pas ni la croissance ni l'anémie. Le fer a seulement une action rétardive sur l'anémie, aussi le phosphor. Par contre l'association de fer et de phosphor peut sauvegarder l'animal de l'anémie.

A new method to produce a nutritional anemia in rats. By M. Suter-Sorkin.

By modification of Brock-Welker's basal diet the author succeeded to produce in white rats rickets as well as anemia. One drop of vitamin D protects the animal from rickets, but has no influence on anemia. Administration of iron is not able to prevent the anemia, also not that of phosphate, but the simultaneous addition of iron and phosphate to the basal diet prevents the anemia and is growth promoting. The experimentally produced anemia is of hypochronic and microcytic caracter and shows numerous erythroblastes in the blood. The nutritional anemia appears in the basal diet after 17—29, in addition of iron after 42—44, in that of phosphates after 15—50 days.

LITERATUR.

1. *Schmidt*, Verh. D. patholog. Ges. 1912, 91. — 2. *Schmidt*, Verh. physik. med. Ges. Würzburg. 1929, 54, 1930, 55. — 3. *Steenbock*, zitiert nach 4. — 4. *Schiff, Eliasberg und Joffe*, Jahrb. Kinderheilk. 1933, **139**, 143. — 5. *Rominger und Bomskov*, Zschr. ges. exp. Med. 1933, 89.

Curriculum vitae.

Am 28. Januar 1916 wurde ich in Rheinfelden (Baden) als Tochter des Nikolaus Sorkin und seiner Ehefrau Luise geb Rineck geboren. Daselbst besuchte ich die Primarschule, weiterhin in Säckingen und Waldshut die Realgymnasien. Letztere Lehranstalt verliess ich Ostern 1935 nach bestandener Reifeprüfung. Anschliessend beschäftigte ich mich zwei Jahre lang mit Kinderpflege und Hausarbeiten. Im Sommersemester 1937 wandte ich mich an der Universität Basel dem Medizinstudium zu, bestand im Frühjahr 1939 das erste und im Frühjahr 1940 das zweite Vorexamen zur Erlangung der Doktorwürde. Im Frühjahr 1944 legte ich, ebenfalls in Basel, die Hauptprüfung zur Erlangung der Doktorwürde ab. 1938 im Herbst siedelte ich Umstände halber von Rheinfelden nach Basel über und verheiratete mich dort im Dezember 1940.

Unter der Anleitung von Herrn Prof. Freudenberg begann ich im Frühling 1942 mit den experimentellen Arbeiten meiner Dissertation im Laboratorium des Kinderspitals in Basel und schloss diese zu Beginn des Jahres 1943 ab.